昆 虫 学 报 *Acta Entomologica Sinica*，May 2008，51(1)：551 – 555　　ISSN 0454-6296

应用多元 PCR 技术对我国红火蚁社会型的鉴定

邵敬国[1,2]**，罗礼智**[1,*]**，陈浩涛**[1]**，江幸福**[1]**，雷朝亮**[2]

（1. 中国农业科学院植物保护研究所，植物病虫害生物学国家重点实验室，北京　100094；
2. 华中农业大学植物科学技术学院，昆虫资源研究所，武汉　430070）

摘要：红火蚁 *Solenopsis invicta* Buren 蚁群存在着单后型和多后型。不同型的红火蚁在行为及生态上存在着较大的差异，因此社会型的鉴别是一个地区制定正确的红火蚁监控技术的关键步骤。本文利用多元 PCR 技术首次对采自我国 4 省 16 个县(市、区)的 120 个红火蚁蚁群的社会型进行了鉴别。结果表明：我国的红火蚁多后型与单后型共存，但以多后型为主。多后型与单后型的比约为 4∶1(97∶23)，但会因地区的不同而异：如广东多后型与单后型的比例最低，约为 3∶1(66∶20)，而广西的多后型与单后型的比为 7∶1(21∶3)。最后，根据我国红火蚁的发生危害情况对这些结果进行了讨论。

关键词：红火蚁；社会型；单后型；多后型；Gp-9 等位基因

中图分类号：　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2008)05-0551-05

Social forms of *Solenopsis invicta* in China，as identified by multiplex PCR of Gp-9 alleles

SHAO Jing-Guo[1,2]，LUO Li-Zhi[1,*]，CHEN Hao-Tao[1]，JIANG Xing-Fu[1]，LEI Chao-Liang[2]（1. State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests，Institute of Plant Protection，Chinese Academy of Agricultural Sciences，Beijing 100094，China；2. Institute of Insect Resources Research，College of Plant Science and Technology，Huazhong Agricultural University，Wuhan 430070，China）

Abstract：There are monogynous and polygynous colonies in the red imported fire ant，*Solenopsis invicta* Buren（Hymenoptera：Formicidae），which are highly associated with the variations in their behavior and ecology. Investigating and understanding the social forms of *S. invicta* colonies were therefore an important step to develop a sound monitoring and controlling program for the pest in a given area. In this study，fire ant workers collected in 16 counties of 4 provinces in mainland China were tested by discriminating Gp-9^{Bb} alleles with multiplex PCR technique. The results showed that both monogyne and polygyne were presented in mainland China，but with polygynes dominant. The ratio of polygynous to monogynous colonies was 97∶23（4∶1）in the 120 fire ant colonies collected and tested，but differed as location varied. The ratio of polygynes to monogynes in Guangdong province was 66∶20（3∶1），whereas that in Guangxi province was 21∶3（7∶1）. Finally，significances of these results were discussed based on the fire ant spreading situation in mainland China and previous published findings.

Key words：*Solenopsis invicta*；social form；monogyne；polygyne；Gp-9 alleles

我国发现红火蚁 *Solenopsis invicta* Buren(膜翅目：蚁科)的危害已有 3 年。红火蚁伤害人体健康，破坏生物多样性，妨碍经济发展等方面的巨大破坏力可能已为人们所熟知。但是，人们对红火蚁的发生危害规律还并不十分熟悉。红火蚁的社会型便是其复杂的发生危害规律中的一种。红火蚁属于社会性害虫，其蚁群有单后型(monogyne)与多后型(polygyne)之分。单后型仅有 1 头蚁后/巢，而多后型则有不少于 2 头蚁后/巢(Glancey，1973)。但是，单后型与多后型的差异不仅仅是蚁后的数量，蚁巢的

基金项目：国家科技支撑课题(2005BA529A06)；国家科研院所研究专项(2005DIB4J034)；农业部财政专项(2130108)

作者简介：邵敬国，男，1982 年 2 月生，硕士研究生，主要从事红火蚁分子生态学研究，E-mail：tianya-sjg@163.com

* **通讯作者** Author for correspondence，E-mail：lzluo@ippcaas.cn

收稿日期 Received：2007-10-22；**接受日期** Accepted：2008-02-25

密度，蚁群的扩散，分巢与建巢方式，地域观念以及工蚁的大小和好斗性均有很大差异（Vargo and Porter，1989；Porter and Savignano，1990；Keller and Ross，1993；Ross，1997；Ross and Keller，1995，1998，Krieger and Ross，2002）。这些不同会导致监测及防治效果上产生很大的差异。因此，鉴定红火蚁的社会型一直是了解红火蚁的发生危害规律，以及制定正确的监控措施的重要组成部分（Drees and Vinson，1990；Porter *et al*.，1991）。

最近的研究还表明，红火蚁的社会型与 Gp-9 基因密切相关（Ross and Keller，1998；Krieger and Ross，2002）。Gp-9 基因含有 Bb 两个等位基因。单后型蚁群中，蚁后和工蚁的基因型都为 BB；而多后型蚁巢中，蚁后为 Bb 基因型，尽管工蚁可能含有 BB，Bb 和 bb（致死基因）3 种基因型，但是 Bb 基因型比例超过 90%（Ross and Keller，2002）。因此，在多后型蚁巢中随机取样的工蚁 DNA 混合基因池一般表现为杂合型。根据红火蚁社会型与 b 等位基因的缺失是紧密关联的（Mescher *et al*.，2003）这一原理，Valles 和 Porter（2003）研发了一种适用于红火蚁社会型鉴定的分子方法，即根据 Gp-9^{Bb} 两个等位基因序列设计两套引物，对红火蚁基因组进行 PCR 扩增，电泳产物中呈现单一特定分子量的条带时为单后型，而出现两条特定分子量的条带时为多后型。这一方法的出现，对传统的红火蚁社会型鉴定方法带来了巨大的改进，并为红火蚁社会型的确定提供了便利，经济的手段。我国台湾已应用该种方法研究明确了该地区红火蚁的社会型分布。

我国自从 2005 年初确认了红火蚁的危害以后，罗礼智（2005）曾根据我国红火蚁蚁巢分布的特征、工蚁的大小等推断入侵我国大陆的红火蚁是以多后型为主。但由于没能提供实验数据，因而关于我国红火蚁的社会型到底是属于那一种，或者是多后型与单后型的比例是多少一直是处于猜测的状态。为了进一步阐明我国红火蚁的发生危害规律，为改善和提高红火蚁的监控技术提供科学依据，本文结合红火蚁扩散传播规律的研究，参考 Valles 和 Porter（2003）的方法，利用多元 PCR 技术，通过对蚁群 Gp-9 等位基因的判读来确定我国红火蚁的社会型及其分布情况。现将主要结果整理报告如下。

1　材料与方法

1.1　红火蚁样本的采集

试验样本采自广东、广西、福建和湖南等 4 个红火蚁发生省份的 16 个地县（表 1）。采集方式主要是通过在蚁丘上放置火腿肠诱集或是破坏蚁巢后再收集工蚁。所采集的工蚁按巢分别置存于 95% 的酒精中，置于冰壶内带回实验室。－70℃冰箱保存备用。采集时间为 2006 年 9 月至 10 月和 2007 年 9 月至 10 月，为期共约 45 天。标本由中国农业科学院植物保护研究所罗礼智研究员通过红火蚁的形态特征进行鉴定。

表 1　我国红火蚁样本的采集信息及鉴定结果

Table 1　Sample information and identification results of *S*. *invicta* colonies collected from mainland China

采集地点 Collecting location	**经度/纬度** Longitude/ Latitude	**采集方式** Collecting method	**采集人** Collector	**巢体数量/单后型巢数*** Number of nests/number of monogynous nests
广东广州 Guangzhou，GD	113°14′/23°08′	**破巢收集** Digging & collecting	**陈浩涛，邵敬国** Chen HT，Shao JG	10/4
广东惠州 Huizhou，GD	114°22′/23°05′	**破巢收集** Digging & collecting	**邵敬国** Shao JG	10/2
广东东莞 Dongguan，GD	113°45′/23°02′	**诱集** Trapping	**邵敬国** Shao JG	10/3
广东中山 Zhongshan，GD	113°22′/22°31′	**诱集** Trapping	**邵敬国** Shao JG	10/3
广东珠海 Zhuhai，GD	113°34′/22°17′	**诱集** Trapping	**邵敬国** Shao JG	10/2
广东深圳 Shenzhen，GD	114°07′/22°33′	**破巢收集** Digging & collecting	**罗礼智，黄绍宁** Luo LZ，Huang SN	10/3
广东连平 Lianping，GD	114°29′/24°22′	**破巢收集** Digging & collecting	**邵敬国** Shao JG	1/0
广东茂名 Maoming，GD	110°53′/21°40′	**诱集** Trapping	**朱景全，邵敬国** Zhu JQ，Shao JG	13/0
广东吴川 Wuchuan，GD	110°47′/21°26′	**诱集** Trapping	**邵敬国** Shao JG	12/3
广西陆川 Luchuan，GX	110°16′/22°19′	**破巢收集** Digging & collecting	**罗礼智，邵敬国** Luo LZ，Shao JG	4/0
广西北流 Beiliu，GX	110°21′/22°42′	**破巢收集** Digging & collecting	**罗礼智，陈浩涛** Luo LZ，Chen HT	8/1
广西岑溪 Cenxi，GX	110°00′/22°55′	**破巢收集** Digging & collecting	**罗礼智** Luo LZ	3/1
广西南宁 Nanning，GX	108°19′/22°48′	**破巢收集** Digging & collecting	**罗礼智** Luo LZ	6/0
广西鹿寨 Luzhai，GX	109°74/24°49	**破巢收集** Digging & collecting	**罗礼智** Luo LZ	3/1
湖南张家界 Zhangjiajie，HN	110°29′/29°08′	**破巢收集** Digging & collecting	**解德华，邵敬国** Xie DH，Shao JG	8/0
福建龙岩 Longyan，FJ	117°01′/25°06′	**破巢收集** Digging & collecting	**邵敬国** Shao JG	2/0

* **单后型的蚁群数量为多元 PCR 的鉴定结果。**The number of monogynous nests was the one identified by multiplex PCR of GP-9 alleles. GD：Guangdong；GX：Guangxi；HN：Hunan；FJ：Fujian.

此外，美国德州农工大学 B. M. Drees 教授提供了 5 巢多后型样本，这些样本采自 College Station（CS，Texas，USA）。台湾大学杨景程博士提供 14 巢台湾样本也与国内所采集的其他样本一起测定。

1.2　DNA 的提取

每巢取 10 头工蚁个体，用 DNA 提取试剂盒 Wizard® Genomic DNA Purification Kit（Promega）提取 DNA。操作步骤按说明书进行。1% 琼脂糖凝胶电泳检测样品 DNA 的纯度。

1.3　PCR 扩增

引物合成参照 Valles 和 Porter（2003），Gp-9B 的特异性引物为 26BS：5′CTCGCCGATTCTAACGAAGGA，16BAS：5′ ATGTATACTTTAAAGCATTCCTAATATTTTGTC；Gp-9b 的特异性引物为 24bS：5′TGGAGCTGATTATGATGAAGAGAAAATA，25bAS：5′GCTGTTTTTAATTGCATTTCTTATGCAG。引物由宝生物工程（大连）有限公司合成。

多元 PCR 扩增反应液由下列成份组成：10 × PCR buffer（含 Mg^{2+}）5 μL，100 μmol/L 引物 26BS，16BAS，24bS 和 25bAS 各 0.2 μL，2.5 mmol/L dNTP 4 μL，5 U/μL Taq 酶 0.25 μL，基因组 DNA 约 50 ~ 500 ng，反应总体积 50 μL，进行热启动 PCR 扩增。程序为：94℃预变性 2 min，35 个循环（94℃变性 15 s，55℃退火 15 s，68℃延伸 30 s），68℃延伸 5 min。2% 琼脂糖凝胶电泳分离，判读社会型。

2　结果分析

应用两对特异性引物进行扩增的结果表明（图 1），红火蚁两种社会型的 Gp-9 基因型是不同的。单后型（M）工蚁仅含有 Gp-9^{B} 等位基因，因此，凝胶电泳仅可见单一 517 bp 的条带。而多后型（P）由于含有 Gp-9^{Bb} 两个等位基因，因此两对特异性引物均对其进行扩增，在凝胶电泳上可以见到 517 bp 和 423 bp 两条带。这与 Valles 和 Porter（2003）所得的结果完全一致。为此，将凝胶电泳上具有一条带的视为单后型，有两条带的视为多后型。

根据上述标准对我国 16 个县（市、区）的 120 个蚁巢进行检测的结果（表 1）表明，我国红火蚁属于多后型的蚁群数量较多，属于单后型蚁群数量较少。在广西 5 个点所采集的 24 巢样本中，仅在北流、岑溪和鹿寨各发现 1 个单后型蚁巢，其余的蚁巢以及在南宁和陆川采集到的蚁巢均是多后型。而在广东 9 个县市（区）所采集的 86 个蚁巢中，连平和茂名仅有多后型但没有单后型存在，其他 7 个采集点的蚁巢均存在单后型及多后型。在福建龙岩，以及湖南张家界所采集的蚁巢均是多后型而没有发现单后型（表 1）。

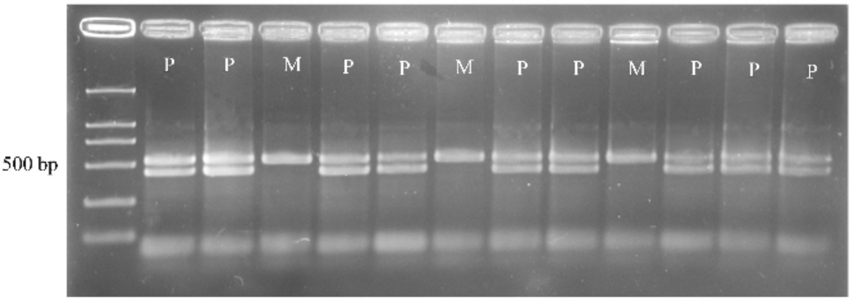

图 1　应用 Gp-9 等位基因检测部分红火蚁的社会型

Fig. 1　Gp-9 banding patterns of social forms of *S. invicta*.

若出现单一 517 bp 的条带，则为单后型；出现两条带（517 bp，423 bp），则为多后型。Monogyne（M）ants produced a single 517 bp amplicon，whereas polygyne（P）ants produced two amplicons（517 bp and 423 bp）when both sets of primers were multiplexed.

表 2　红火蚁多后型及单后型在所鉴别样本中的数量及比例

Table 2　Number and ratio of monogynous and polygynous colonies of *S. invicta* collected from College Station，Texas of USA，Taiwan of China and mainland China

地区 Area	蚁巢数 Number of nests	单后型 Monogyne	多后型 Polygyne	多后型∶单后型 Polygyne∶Monogyne
广东 Guangdong，China	86	20	66	3∶1
广西 Guangxi，China	24	3	21	7∶1
福建 Fujian，China	2	0	2	2∶0
湖南 Hunan，China	8	0	8	8∶0
中国大陆（合计）Mainland China（Total）	120	23	97	4∶1
中国台湾 Taiwan，China	14	4	10	3∶1
美国得克萨斯州大学城 CS，Texas，USA	5	0	5	5∶0

所获的结果还表明(表 2),采自美国德州 CS 的 5 巢样本均是多后型。而来自台湾的 14 个蚁群中,除了 4 巢为单后型以外,其余的均为多后型。我国大陆地区的红火蚁多后型与单后型的比为 97∶23(4∶1),但会因地区的不同而异:其中广东多后型与单后型的比例最低,为 66∶20(3∶1),其次是广西,为 21∶3(7∶1)。台湾地区的多后型与单后型的比为 10∶4(3∶1),表明我国台湾和大陆地区的红火蚁均是以多后型为主。

3 讨论

所获的结果表明,多元 PCR 是一种可靠性强,重复性高(Valles and Porter,2003)的红火蚁社会型鉴别方法。所得的鉴定结果(图 1)与 Valles 和 Porter (2003)的结果完全一致是对这个结论的最好支持。其次来自美国得克萨斯 CS 的蚁群鉴定结果也支持这个结论。这是因为美国得克萨斯大部分地区的红火蚁都是属于多后型(Porter *et al*.,1991)。而这次来自美国得克萨斯 CS 的蚁巢是由 Drees 教授于 2007 年 6 月来访时带过来的。他把蚁巢交给我们时已明确告诉我们这些蚁巢是属于多后型,而所鉴定的结果也全部是多后型(表 2)。来自台湾的 14 个蚁群中有 4 个为单后型,其余的均为多后型的鉴定结果(表 2)也与台湾的红火蚁主要是多后型,而单后型较少(Chen *et al*.,2006)的结论相吻合。于是,由于我国大陆的样本与美国和我国台湾的标本所采用的鉴别方法和程序完全一样,因此所得的鉴定结果完全可信。

对我国大陆 4 省 16 个点 120 个蚁巢进行测定的结果表明,多后型与单后型的比约为 4∶1 (表 2),因此,我国红火蚁的社会型是以多后型为主。这些结果与罗礼智(2005)根据蚁巢的密度、工蚁的大小等推断我国的红火蚁主要是以多后型为主的推断相符。另外,根据工蚁的大小、好斗性以及蚁后的多少对我国广东、广西主要发生危害区的蚁群社会型进行鉴定的结果也表明,这两个省份的红火蚁主要是多后型(陈浩涛等,待发表),虽然这两个地区的多后型与单后型的比例有较大的差异。另外,从红火蚁的扩散速度较慢这一点来看(许益镌等,2006),我国的红火蚁也是多后型为主。主要是因为多后型的扩散方式主要是通过分巢而进行,独立建巢能力和远距离迁移能力都比较弱。基于这些结果,我国红火蚁是以多后型为主的结论应该是肯定并可以接受的。但是,由于采集的地点并未能覆盖所有的红火蚁发生点,同时每个点所采集的样本量也有限,因此我国红火蚁社会型的分布以及多后型与单后型的比例等问题依然需要作进一步的确定。

最后,值得提及的是,红火蚁社会型的确定还有很多传统的方法,但其过程是非常复杂和繁琐的,且容易造成鉴定失误和人身安全隐患。由于进行多元 PCR 鉴别时每巢仅需要 10 余头工蚁,而且鉴别方法可操作性强,因而不仅快速、简便,而且还可有效地节省时间和经费开支。

致谢 在红火蚁样本的采集过程中,得到了广东省植物检疫站陈忠南站长、深圳市植保站黄绍宁研究员、广西壮族自治区植保总站王凯学站长、福建省植物保护站陈军科长以及湖南省植保植检站周社文研究员等领导和专家的支持、关心和帮助;美国德州农工大学(Texas A & M University)的 B. M. Drees 教授和台湾大学杨景程博士提供本地标本。在此表示衷心的感谢!

参 考 文 献 (References)

Chen JSC, Shen CH, Lee HJ, 2006. Monogynous and polygynous red imported fire ants, *Solenopsis invicta* Buren (Hymenoptera: Formicidae), in Taiwan. *Environ. Entomol.*, 35: 167 – 172.

Drees BM, Vinson SB, 1990. Comparison of the control of monogynous and polygynous forms of the red imported fire ant (Hymenoptera: Formicidae) with a chlorpyrifos mound drench. *J. Entomol. Sci.*, 25 (2): 317 – 324.

Glancey BM, Craig CH, Stringer CE, Bishop PM, 1973. Multiple fertile queens in colonies of the imported fire ant, *Solenopsis invicta*. *J. Entomol. Sci.*, 8: 237 – 238.

Keller L, Ross KG, 1993. Phenotypic basis of reproductive success in a social insect: genetic and social determinants. *Science*, 260: 1 107 – 1 110.

Krieger MJB, Ross KG, 2002. Identification of a major gene regulating complex social behavior. *Science*, 295: 328 – 332.

Luo LZ, 2005. Considerations and suggestions on managing the red imported fire ant, *Solenopsis invicta* Buren in China. *Plant Protection*, 31(2): 5 – 8. [罗礼智, 2005. 基于控制我国红火蚁危害的几点思考. 植物保护, 31 (2): 5 – 8]

Mescher MC, Ross KG, Shoemaker DD, Keller L, Krieger MJB, 2003. Distribution of the two social forms of the fire ant *Solenopsis invicta* (hymenoptera: Formicidae) in the native South American range. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 96(6): 810 – 817.

Porter SD, Savignano DA, 1990. Invasion of polygyne fire ants decimates native ants and disrupts arthropod community. *Ecology*, 71: 2 095 – 2 106.

Porter SD, Bhatkar AP, Mulder R, Vinson SB, Clair D, 1991. Distribution

and density of polygyne fire ants (Hymenoptera: Formicidae) in Texas. *J. Econ. Entomol.*, 84: 866 – 874.

Ross KG, 1997. Multilocus evolution in the ants: effects of selection, gene flow and recombination. *Genetics*, 145: 961 – 974.

Ross KG, Keller L, 1995. Ecology and evolution of social organization: insights from the ants and other highly eusocial insects. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 26: 631 – 656.

Ross KG, Keller L, 1998. Genetic control of social organization in an ant. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95: 14 232 – 14 237.

Ross KG, Keller L, 2002. Experimental conversion of colony social organization by manipulation of worker genotype composition in fire ants (*Solenopsis invicta*). *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 51: 287 – 295.

Valles SM, Porter SD, 2003. Identification of polygyne and monogyne fire ant colonies (*Solenopsis invicta*) by multiplex PCR of Gp-9 alleles. *Ins. Soc.*, 2003, 50: 199 – 200.

Vargo EL, Porter SD, 1989. Colony reproduction by budding in the polygyne form of *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 82(3): 307 – 313.

Xu YJ, Lu YY, Zeng L, Xi YB, Huang J, 2006. Study on location expansion of *Solenopsis invicta*. *J. South China. Agri. Univ.*, 27(1): 40 – 42. [**许益镌，陆永跃，曾玲，席银宝，黄俊**，2006. **红火蚁局域扩散规律研究**. **华南农业大学学报**，27(1)：40 – 42]

（责任编辑：袁德成）